

**BAKTERIZIDE-EFFEKTE
DES IN VITRO SIMULIERTEN
CEFOTETAN-SERUMSPIEGELPROFILS
BEI GONOKOKKENISOLATIONEN
VON GEHEILTEN UND UNGEHEILTEN
GONORRHOE-PATIENTEN**

Maria Käufel

1988

Disbui. München

1988



BAKTERIZIDIE-EFFEKTE DES IN VITRO SIMULIERTEN
CEFOTETAN-SERUMSPIEGELPROFILS
BEI GONOKOKKENISOLATEN VON GEHEILTEN UND UNGEHEILTEN
GONORRHOE-PATIENTEN

Maria Käufl

1988

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München

Vorstand: Prof.Dr.Dr.h.c. O. Braun-Falco

BAKTERIZIDIE-EFFEKTE DES IN VITRO SIMULIERTEN
CEFOTETAN-SERUMSPIEGELPROFILS
BEI GONOKOKKENISOLATEN VON GEHEILTEN UND UNGEHEILTEN
GONORRHOE-PATIENTEN

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von

Maria Käufl

aus

München

Jahr

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Priv.-Doz. Dr. med. H.C. Korting

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan:

Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

23.02.1988

GEWIDMET

meinen Eltern
und meinen Freundinnen und Freunden,
die mir während des Studiums geholfen haben

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. MATERIAL UND METHODEN	8
2.1. BAKTERIENSTÄMME	8
2.2. CHEMOTHERAPEUTIKUM	9
2.3. KULTURMEDIENTEN	10
2.3.1. NÄHRBÖDEN	10
2.3.2. NÄHRBOUILLON	10
2.4. SIMULIERTE SERUMSPIEGEL	11
2.5. MODELLAPPARAT UND VERSUCHSDURCHFÜHRUNG MIT SIMULATION DER SERUMSPIEGEL	13
2.6. KEIMZAHLBESTIMMUNG	16
2.7. CHEMOTHERAPEUTIKUM-SPIEGELBESTIMMUNG	17
3. ERGEBNISSE	18
3.1. VERGLEICHANSATZ OHNE CHEMOTHERAPEUTIKUM	18
3.2. ERGEBNISSE BEI IN VITRO-SIMULATION DER SERUMSPIEGEL VON 500 UND 1000 mg CEFOTETAN	19
4. DISKUSSION	30
5. ZUSAMMENFASSUNG	33
6. VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN	35
7. VERZEICHNIS DER TABELLEN	37
8. LITERATURANGABEN	38

1. EINLEITUNG

Cefotetan ist ein unlängst entwickeltes halbsynthetisches Cephalosporin aus der Gruppe der Cephamyne. Neben Cefoxitin ist es der wichtigste Vertreter dieser Gruppe. Cefotetan besitzt hervorragende pharmakokinetische Eigenschaften. Die Serumhalbwertszeit beträgt 3,0 h, auch über einen längeren Zeitraum (12 h) werden hohe Spiegel erreicht. Die Gewebskonzentrationen nach intravenöser Injektion von Cefotetan erlangen relativ hohe Werte, da es gut in Haut, Fett, Faszien, Muskeln und Gallenblase diffundiert. Nach 1 bis 6 h werden Konzentrationen von 4 und 6 mg/l in der Haut gemessen (Wittke u.a., 1984).

Das Wirkungsspektrum von Cefotetan erstreckt sich über grampositive und gramnegative Keime. Nach intramuskulärer Gabe wird es sehr schnell resorbiert, es wird nicht metabolisiert und unverändert zu 70 % über den Harn ausgeschieden. Da gynäkologische Infektionen oftmals durch aerobe und anaerobe Bakterien verursacht werden, bietet sich eine Therapie mit einem Cephalosporin wie Cefotetan an, das ein weites Wirkungsspektrum gegen Anaerobier zu eigen hat, insbesondere gegen die Bakteroidesarten (Palumbo u.a., 1985).

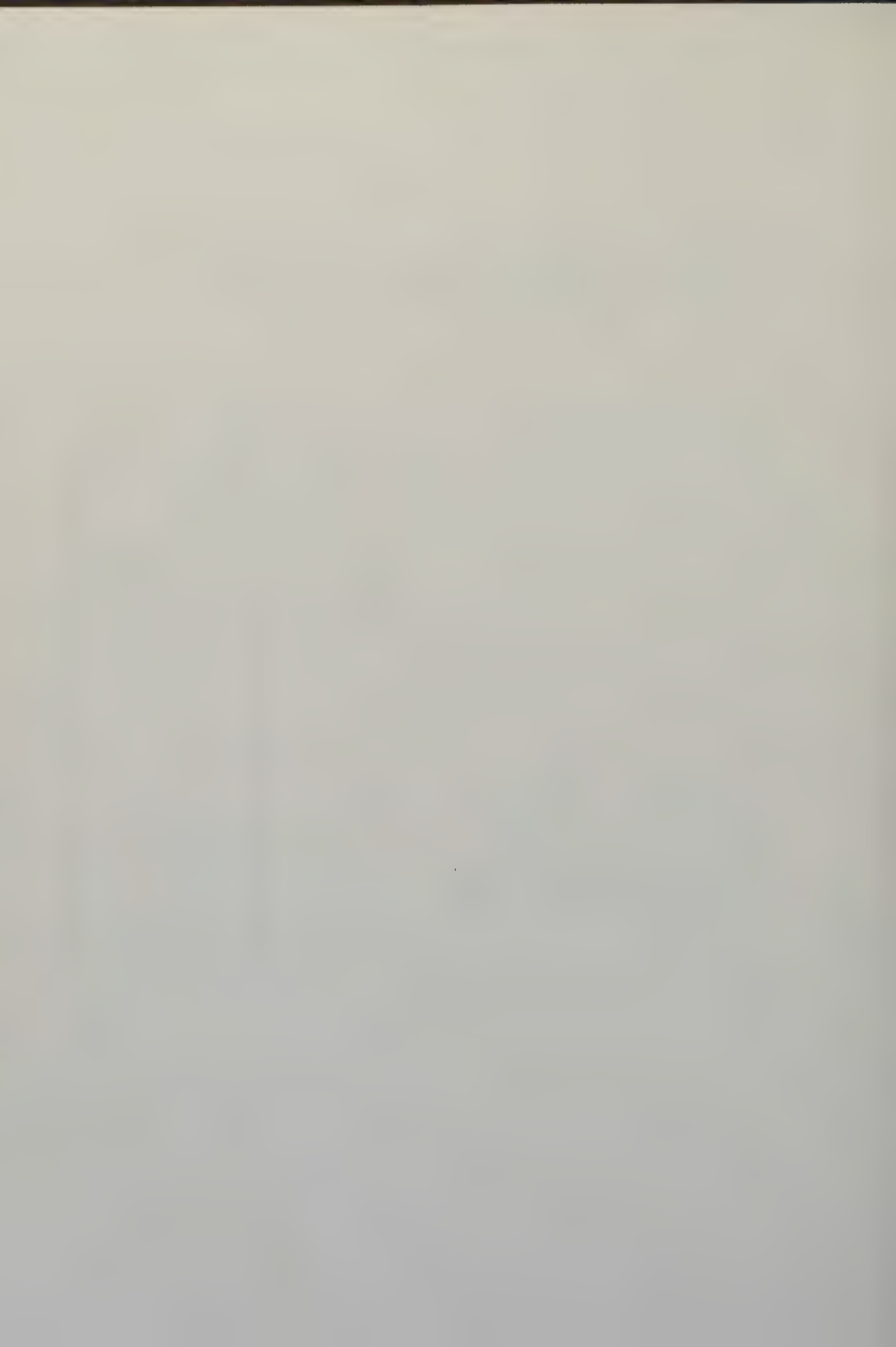
Die in vitro-Aktivität von Cefotetan gegen Bakteroides fragilis wurde mehrmals im Agardiffusionstest untersucht. Der Vergleich dieser Ergebnisse zeigt, daß Cefotetan ein wenig wirksamer ist als Cefoxitin. Beide Antibiotika besitzen größere therapeutische



Wirksamkeit als Cephalosporine aus anderen Gruppen (Privitera u.a., 1984) oder als z.B. Ampicillin (Phillips u.a., 1983), um einen Vertreter aus der Reihe der Penicilline zu nennen.

Tabelle 1: $MHK_{50\%}$ - Werte von Cefotetan und
Cefoxitin für *Bakteroides fragilis*

$MHK_{50\%}$ (mg/l)		
	Cefotetan	Cefoxitin
Phillips u.a. (1983)	4	/
Dette u.a. (1984)	3,2	/
Moosdeen u.a. (1983)	4	8
Privitera u.a. (1984)	4-8	8-16
Clarke und Zemcov (1983)	4	4



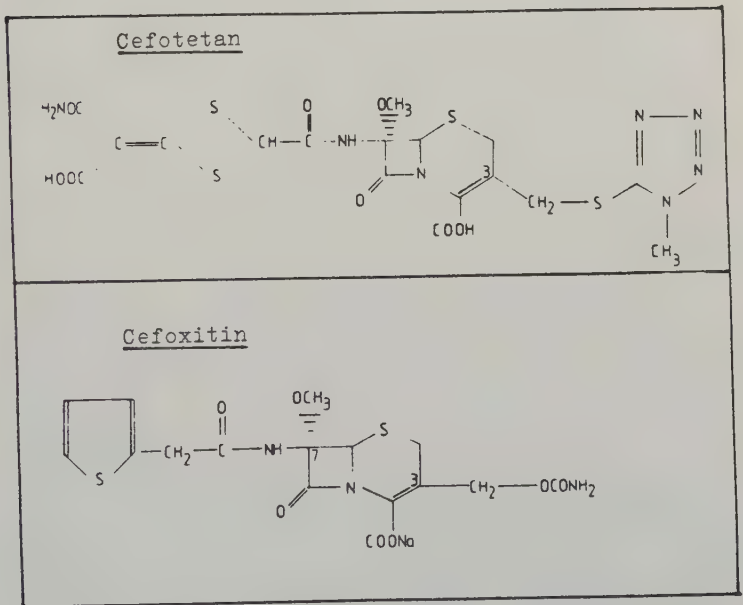
Die Plasmaproteinbindung beträgt nach Tille (1985) 90 %, nach einer Untersuchung von Yates (1983) 88 %.

Cefotetan ist sehr gut verträglich und zeigt kaum Nebenwirkungen, es treten keine allergischen Reaktionen auf, gastrointestinale Irritationen in Form von Diarrhoe klingen nach ein bis zwei Tagen ohne Therapie wieder ab, bei sehr wenigen Patienten beobachtete man ein leichtes Absinken der Thrombozytenzahl (Wittke u.a., 1984).

Antibiotika der Cephamycin-Reihe zeichnen sich durch eine etwa gegenüber den meisten Cephalosporinen im engeren Sinne vergleichsweise hohe Betalactamasestabilität aus, dies gilt für den ersten erfolgreich in die antibakterielle Therapie eingeführten Vertreter der Cephamycine, das Cefoxitin, ebenso wie für das Cefotetan.

Die Betalactamasestabilität ist bedingt durch eine Methoxy-Gruppe in 7- α -Stellung, die allen Cephamycinen gemeinsam ist. Es sind dies außer Cefotetan und Cefoxitin, den wichtigsten Vertretern dieser Gruppe, Cefmetazol und Latamoxef.

Abb. 1: Die Strukturformeln von Cefotetan und Cefoxitin im Vergleich



Angesichts der 1976 erstmals beschriebenen (Phillips) und sich seitdem immer mehr akzentuierenden Problematik Betalactamase-bildender Gonokokken (Eichmann, 1983) erscheint es sinnvoll, auch Antibiotika der Cephamycin-Reihe unter dem Aspekt ihrer Eignung in der Therapie der Gonorrhoe zu evaluieren. Dies gilt um so mehr, als schon vor einiger Zeit 100%ige Heilungsergebnisse mit Cefoxitin bei unkomplizierter Gonorrhoe verzeichnet werden konnten (Berg u.a., 1979).

Vor dem Hintergrund eigener Untersuchungen zur minimalen Hemmkonzentration von Cefotetan bei Münchener *Neisseria gonorrhoeae*-Isolaten - die minimalen Hemmkonzentrationen reichten von 0,016 bis 4,0 $\mu\text{g/ml}$ (Korting u.a., 1986)- und günstig erscheinender pharmakokinetischer Eigenschaften des Cefotetans (Guibert u.a., 1983) wurde kürzlich an der hiesigen Klinik auch eine Prüfung bei unkomplizierter Gonorrhoe durchgeführt.

Wider Erwarten zeigte die einmalige intramuskuläre Applikation von 1 g Cefotetan aber nur eine bakteriologische Heilungsrate von 92,3 % (Korting u.a., 1986), was sich deutlich von der 100%igen Heilungsrate eines entsprechenden Ceftizoxim-Protokolls abhebt (Korting und Neubert, 1984).

Bei dem Vergleich der im Rahmen dieser Studie gewonnenen in vitro-Daten (minimale Hemmkonzentration) und in vivo-Daten (bakteriologische Heilung der unkomplizierten Gonorrhoe) fiel auf, daß bei Gonokokken-Isolaten in einem minimalen Hemmkonzentrationsbereich von 0,063 bis 2,0 $\mu\text{g/ml}$ Stämme klinisch teils hatten eradiziert werden können, teils aber auch nicht.

In diesem Zusammenhang stellte sich die Frage, ob die Ermittlung der minimalen Hemmkonzentration im Agardilutionstest allein möglicherweise nicht geeignet war, Unterschiede der Cefotetan-Empfindlichkeit von Gonokokken aufzudecken.

Deshalb wurden die bei Probanden nach einmaliger intramuskulärer Applikation von 500 respektive 1000 mg Cefotetan zu verzeichnenden Serumkonzentrationszeitprofile in vitro in Anwesenheit von klinisch eradierten bzw. nichteradierten Gonokokken-Isolaten gleicher minimaler Hemmkonzentration simuliert.

2. MATERIAL UND METHODEN

Zugrunde gelegt wurde den vorliegenden Untersuchungen das von Grasso u.a. (1978) erstmals beschriebene und zur Anwendung bei *Neisseria gonorrhoeae*-Stämmen modifizierte Modell (Korting u.a., 1986).

Die wesentlichen Prinzipien des Untersuchungsganges sowie die speziesbedingten Besonderheiten werden im folgenden kurz dargelegt.

2.1. BAKTERIENSTÄMME

Die bei der vorliegenden Untersuchung verwendeten Stämme von *Neisseria gonorrhoeae* waren 1984/85 aus dem Krankengut der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München isoliert worden und tiefgefroren bei -80° C bis zur Verwendung aufbewahrt worden.

Insgesamt wurden 8 *Neisseria gonorrhoeae*-Isolate für die Untersuchungen ausgewählt, es handelte sich um jeweils 2 Stämme mit gleicher Empfindlichkeit zufolge dem Agardidilutionstest, die minimalen Hemmkonzentrationen lagen bei 0,063, 0,25, 1,0 und 2,0 μ g/ml. Jeweils einer der beiden gleich empfindlichen Stämme stammte von einem Patienten, bei dem eine unkomplizierte Gonorrhoe hatte bakteriologisch geheilt bzw. nicht geheilt werden können.

In diesem Zusammenhang sei auf die frühere Arbeit über die Wirksamkeit von Cefotetan gegenüber Gonokokken in vitro und in vivo verwiesen (Korting u.a., 1986).

Von allen *Neisseria gonorrhoeae*-Stämmen wurde je eine Einzelkolonie auf Kochblutplatten gewonnen und weiter vermehrt. Die Bebrütung erfolgte 24 h in einem Brutschrank der Fa. Heraeus, Hanau, D, bei 37° C und 5 % CO₂-Begasung. Bevor die Stämme für den Versuch zur Verwendung kamen, wurde mindestens dreimal eine neue Subkultur gewonnen. Die Reinheit der Gonokokkenkultur wurde laufend durch den Cytochromoxydase-Nachweis und durch mikroskopische Untersuchungen von Präparaten, die mit der Methode nach Gram gefärbt worden waren, überprüft.

2.2. CHEMOTHERAPEUTIKUM

Cefotetan wurde als Reinsubstanz für Laborzwecke dankenswerterweise von ICI-Pharma, Plankstadt, D, zur Verfügung gestellt, und zwar als Dinatrium-Salz, wobei 1,076 g dieses Salzes 1,0 g freiem Cefotetan entsprachen. Die für den Versuch benötigten Antibiotikallösungen bestimmter Konzentration wurden jeweils unmittelbar vor Versuchsbeginn frisch hergestellt.

2.3. KULTURMEDIENTEN

2.3.1. NÄHRBÖDEN

Jeweils 15 g pulverisiertes Rinderhämoglobin (BBL, Baltimor, Md., USA) und 45 g Proteose Nr. 3 Agar (Difco, Detroit, Mich., USA) wurden in 500 ml Aqua dest., versetzt mit 1 Tropfen Silikon-Antischaumemulsion (Serva, Heidelberg, D), gut gelöst und 30 min bei 120° C getrennt autoklaviert.

Nach Abkühlung beider Lösungen auf ca. 45° C wurden sie vermischt und mit IsoVitaleX-Enrichment in 2%iger Konzentration angereichert. Im Anschluß daran wurde die Schoko-Agar-Lösung unter sterilen Bedingungen in Petrischalen gegossen, wobei ein Petrimat (Struers, Dänemark) Verwendung fand. Nach dem Abkühlen wurden die Platten bis zum Gebrauch (max. 2 Wochen) im Kühlschrank bei +6° C gelagert.

2.3.2. NÄHRBOUILLON

Die für den Versuch herangezogene Nährbouillon wurde nach den Angaben von Morse u.a. (1976) hergestellt:

- 15 g Proteose
Peptone Nr. 3 (Difco, Detroit, Mich., USA)
- 5 g NaCl (E. Merck, Darmstadt, D)
- 1 g KH_2PO_4 (E. Merck)
- 4 g K_2HPO_4 (E. Merck)
- 1 g Soluble Starch (Difco)

Diese Substanzen wurden in 1 l Aqua dest. aufgelöst und 30 min bei 120° C autoklaviert. Danach wurden 10 ml IsoVitaleX (BBL, Baltimore, Md., USA), 42 mg NaHCO_3 (E. Merck, Darmstadt, D) und 4 g Glucose (E. Merck) mit Hilfe von Sterilfiltern (Filter SM 165 34 K - Porengröße 0,2 μm - Sartorius, Göttingen, D) zugefügt. Der pH-Wert der Bouillon betrug 7,2.

2.4. SIMULIERTE SERUMSPIEGEL

Simuliert wurden diejenigen Serumkonzentrationen in der Zeit, welche Guibert u.a. (1983) bei 6 gesunden Erwachsenen nach intramuskulärer Injektion von 500 mg respektive 1000 mg Cefotetan gefunden hatten.

Die aus diesen Daten abzuleitenden und im vorliegenden Zusammenhang wichtigen pharmakokinetischen Parameter werden in nachfolgender Tabelle aufgeführt.

Tab. 2: Pharmakokinetische Parameter und für den
Versuchsablauf daraus abgeleitete Kenn-
größen

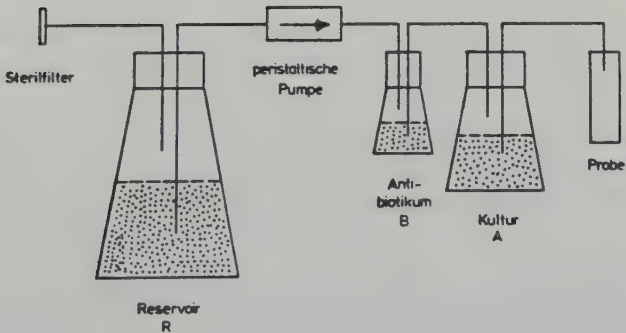
	Plasmaspiegel	
	500 mg	1000 mg
Absorptionskonstante K_A (h^{-1})	0,0203	0,0270
Eliminationskonstante K_E (h^{-1})	0,0033	0,0031
Halbwertszeit der Elimination $t_{1/2, E}$ (h)	3,49	3,77
Fußrate F (ml/min)	0,6	0,6
Volumen Kulturgef. V_A (ml)	180,0	196,0
Volumen Antibiotikumgef. V_B (ml)	29,5	22,2
Dosis D (mg)	8,69	10,0

2.5. MODELLAPPARAT UND VERSUCHSDURCHFÜHRUNG MIT SIMULATION DER SERUMSPIEGEL

Zu dieser Untersuchung wurde ein von Grasso u.a. (1978) entwickeltes und von Korting u.a. (1986) modifiziertes Modell verwendet.

Dieses dynamische Modell erlaubt es, Serumkonzentrationszeitprofile zu simulieren. Das in vitro-Modell ist in Abbildung 2 abgebildet.

Abb. 2: Versuchsanordnung zur Simulation von
Serumspiegeln



Drei Gaswaschflaschen sind durch sterile Schläuche miteinander verbunden. Ein Luftzutritt am Beginn des Systems ist durch einen Sterilfilter (Filter SM 165 34K - Porengröße $0,2\ \mu\text{m}$ - Sartorius, Göttingen, D) gewährleistet.

Eine peristaltische Pumpe (Schlauchpumpe 131900, Desaga, Heidelberg, D) befördert kontinuierlich während des gesamten Versuchsablaufes sterile Bouillon aus dem Reservoir mit konstanter Flußrate (F) in das Antibiotikumgefäß (B). Dieses enthält ein bestimmtes Volumen Bouillon (V_B) mit bestimmter Konzentration an Chemotherapeutikum. Das Kulturgefäß beinhaltet die Gonokokkensuspension. Diese muß unmittelbar vor Versuchsbeginn hergestellt werden.

Zur Beimpfung des Kulturgefäßes mit *Neisseria gonorrhoeae* wird von ca. 24 h lang bebrüteten Nährböden mittels einer ausgeglühten Metallöse eine geringe Menge abgenommen. Dieses Keimkonglomerat wird in einem Röhrchen, das mit 2 ml steriler Bouillon gefüllt worden war, verrieben. Mit Hilfe eines Rüttlers (Cenco Instrumenten b.v., Breda, NL) erhält man eine gleichmäßige Bakteriensuspension. Diese Suspension wurde überimpft auf das Kulturgefäß A, das ebenfalls ein genau festgesetztes Volumen (V_A) beinhaltet.

Nach einer Vorinkubationszeit von 1 Stunde, in der sich die Keime mit logarithmischer Wachstumsrate vermehrt haben, enthält Kulturgefäß A eine Keimdichte von mindestens 10 000 000 Koloniebildenden Einheiten (KbE/ml).

Ab diesem Zeitpunkt, nach einstündiger Vorinkubationszeit, wird die Pumpe betätigt und sie befördert zum Ende des in vitro-Systems Bouillon, die gesammelt wird und der Untersuchung nach Keimdichte und Antibiotikumkonzentration zugänglich ist. Der dynamische Teil des Versuches erstreckt sich über einen Zeitraum von 8 Stunden. Alle Versuchsgefäße befinden sich in einem Wasserbad, das durch ein Heizmischgerät (Thermomix 1420, Braun, Melsungen, D) auf konstant 37° C erwärmt wird.

Während der dynamischen Phase des Versuchs verringert sich die Antibiotikumkonzentration in Gefäß B exponentiell. Gleichzeitig steigt der Spiegel in Gefäß A bis zu einem Maximalwert an und fällt daraufhin langsam wieder ab.

Diesen Spiegelverlauf beschrieben Grasso u.a. (1978) durch folgende Gleichung:

$$C_t = (D/V_A) \times (K_A/(K_A - K_E)) \times (e^{-K_E t} - e^{-K_A t})$$

$$K_A = \text{Absorptionskonstante } (F/V_B)$$

$$K_E = \text{Eliminationskonstante } (F/V_A)$$

Für die Dosis D, die Flußrate F und die Volumina A und B wurden Werte gewählt, die den vorgegebenen Serumspiegelzeitverlauf zu simulieren ermöglichten.

Um kontrollieren zu können, ob ein genügendes Keimwachstum vorliegt, wurde ein Versuch unter identischen Bedingungen, aber ohne Zugabe von Antibiotikum durchgeführt.

2.6. KEIMZAHLBESTIMMUNG

Stündlich wurden Proben zur Bestimmung der Keimdichte gesammelt. Von den Proben wurden 0,2 ml entnommen und anschließend die Keimdichte mittels einer Serienverdünnungsreihe auf zu erwartende Werte von 1 - 100 koloniebildenden Einheiten pro ml der Verdünnungsreihe reduziert.

Die Reagenzröhrchen enthielten je 1,8 ml Bouillon und wurden im Schüttelwasserbad (Köttermann, Hänigsen, D) warm gehalten. Die Verdünnungsreihe wurde jeweils doppelt durchgeführt. Mit Hilfe der Membranfiltermethode nach Vömel (1965) wurden je die drei letzten Röhrchen einer Verdünnungsreihe abfiltriert und das Filtrationsgerät jeweils mit 2 mal 10 ml steriler, vorgewärmter Bouillon gespült. Nach der Filtration wurde das Membranfilterblättchen (SM 114007 - Porengröße $0,2\ \mu\text{m}$ - Sartorius, Göttingen, D) mit einer sterilen Pinzette entnommen und auf eine Agarplatte gebracht.

Nach 48-stündiger Bebrütung der Platten bei 37°C und 5 % CO_2 -Begasung konnten die makroskopisch sichtbaren koloniebildenden Einheiten ausgezählt werden, wobei von jeder Probe letztendlich 6 verschiedene Platten der Auswertung zugänglich waren.

2.7. CHEMOTHERAPEUTIKUM-SPIEGELBESTIMMUNG

In den während des Versuchsablaufs gewonnenen Proben wurde der Cefotetanspiegel unter Einsatz des Testkeimes *E. coli* NIHJ im Bioassay untersucht (Komiya u.a. 1982).

Die Bestimmung erfolgte während der ersten drei Stunden viertelstündlich, dann stündlich.

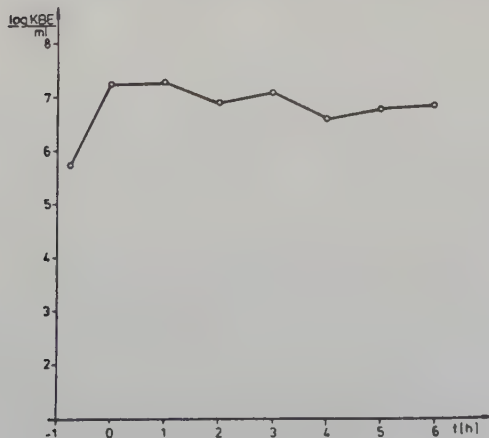
Jede Probe wurde zweimal bestimmt.

3. ERGEBNISSE

3.1. VERGLEICHANSATZ OHNE CHEMOTHERAPEUTIKUM

Beim Start der Versuche zum Zeitpunkt t_0 befinden sich die Keime in einer logarithmischen Wachstumsphase. Zu Beginn des dynamischen Teils des Versuches (t_0) endet dieses Wachstum und bleibt während des restlichen Versuchsablaufs relativ konstant im Bereich von ca. 10^7 koloniebildenden Einheiten.

Abb. 3: Entwicklung der Keimdichte von *Neisseria gonorrhoeae* in Abwesenheit von Cefotetan unter Verwendung der Parameter für die Simulation einer Dosis von 1000 mg



3.2. ERGEBNISSE BEI IN VITRO-SIMULATION DER SERUMSPIEGEL VON 500 UND 1000 mg CEFOTETAN

Bei allen untersuchten *Neisseria gonorrhoeae*-Isolaten zeigte sich in Gegenwart beider Serumspiegelzeitprofile ein ausgeprägter bakterizider Effekt.

Binnen acht Stunden verminderte sich die Keimdichte in jedem Fall um mindestens vier Zehnerpotenzen; dabei war eine stärkere Abhängigkeit von der zugrunde gelegten Dosis (500 respektive 1000 mg) und der minimalen Hemmkonzentration des Antibiotikums bei den Bakterien nicht zu erkennen.

Die in vitro tatsächlich erreichten und im Bioassay ermittelten Spiegelkurvenverläufe entsprechen weitgehend den auf mathematischer Basis aus den klinischen Werten ermittelten Idealkurven. Die Abbildungen 4 bis 11 geben die Entwicklung der Keimdichte bei den verschiedenen Keimen und den jeweils simulierten Serumspiegelzeitkurven wieder.

Abb. 4: Bakterizidie-Effekt des 500 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von $0,063 \mu\text{g/ml}$

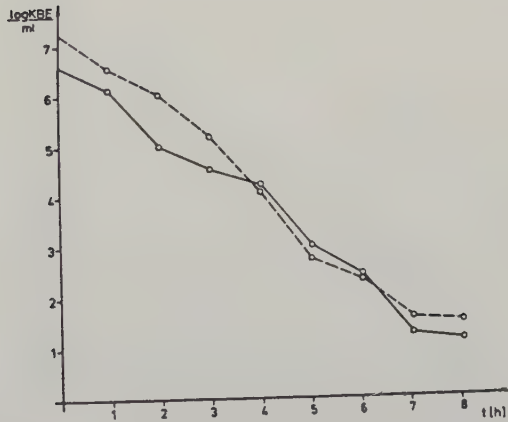


Abb. 5: Bakterizidie-Effekt des 1000 mg-Serumspiegel-zeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von $0,063 \mu\text{g/ml}$

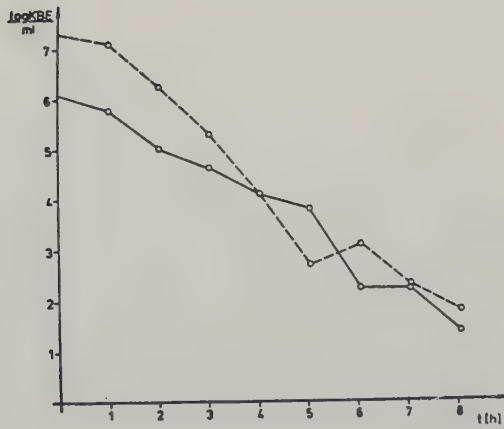


Abb. 6: Bakterizidie-Effekt des 500 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von $0,25 \mu\text{g/ml}$

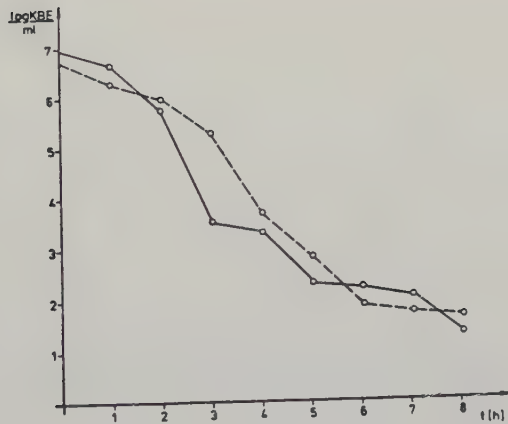


Abb. 7: Bakterizidie-Effekt des 1000 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von 0,25 $\mu\text{g/ml}$

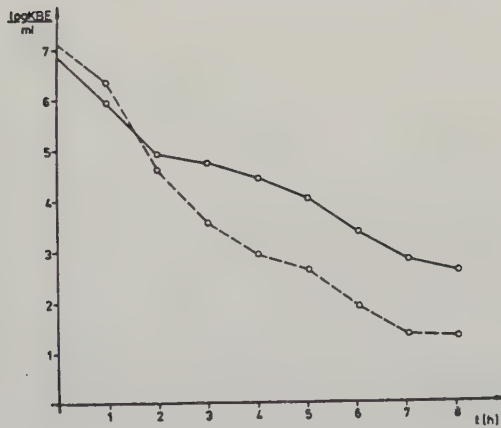


Abb. 8: Bakterizidie-Effekt des 500 mg-Serumspiegel-zeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von $1,0 \mu\text{g/ml}$

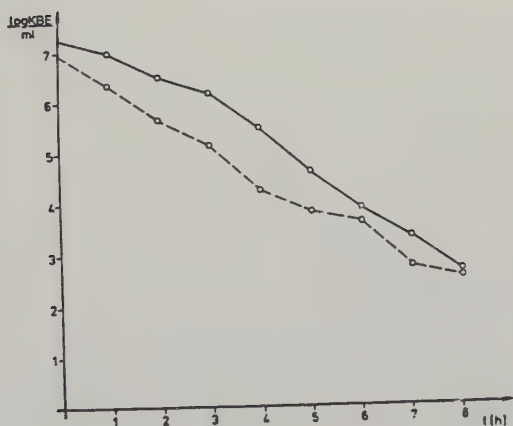


Abb. 9: Bakterizidie-Effekt des 1000 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von $1,0 \mu\text{g/ml}$

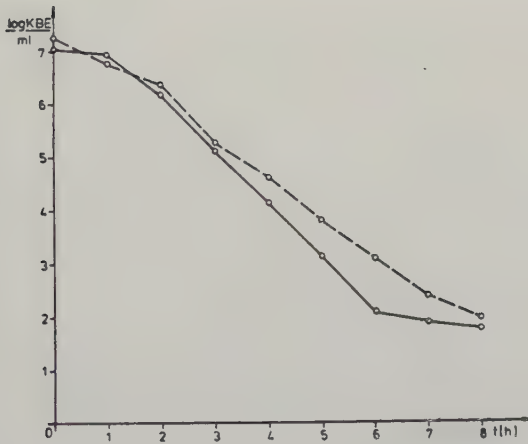


Abb. 10: Bakterizidie-Effekt des 50% mg-Serumspiegel-
zeitprofils von Cefotetan bei einem Gono-
kokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversager-
stamm (---) bei einer MHK von $2,0 \mu\text{g/ml}$

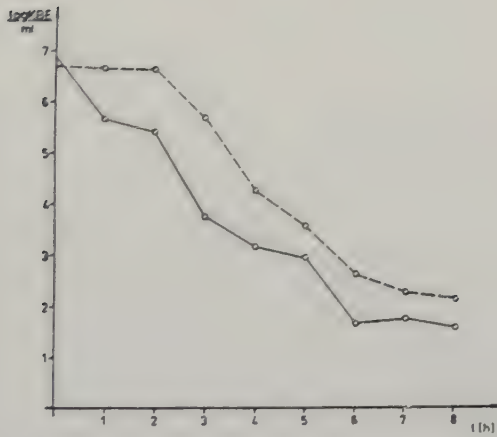
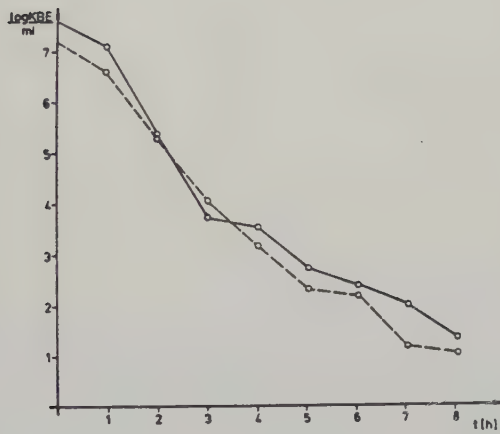


Abb. 11: Bakterizidie-Effekt des 1000 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von 2,0 $\mu\text{g/ml}$



Jede Abbildung stellt die Situation bei einem Versager-Stamm und einem Nicht-Versager-Stamm gleicher minimaler Hemmkonzentration dar.

Wie die Graphiken ausweisen, läßt sich ein wesentlicher Unterschied im bakteriziden Effekt von simulierten Spiegeln von 500 und 1000 mg Cefotetan nicht erkennen.

Dies schlägt sich auch in den Werten für die von Shah (1978, 1981) angegebenen Bakterizidieparametern für die für eine Keimreduktion um 99 % notwendige Zeitdauer ($t_{99\%}$) sowie für die maximale relative Keimreduktion in Prozent (k_n) nieder, die Tabelle 3 enthält.

Tab. 3: Bakterizidieparameter für die in vitro
gegenüber dem Konzentrationszeitprofil von
500 und 1000 mg Cefotetan im Serum exponier-
ten *Neisseria gonorrhoeae*

Stamm Nr.	MHK (µg/ml)	Versager- stamm	Serumspiegelprofil			
			500 mg		1000 mg	
			k _n (%)	t _{99 %} (min)	k _n (%)	t _{99 %} (min)

11527/84	0,063	-	0,0002	186	0,00031	180
5637/85	0,063	+	0,00031	168	0,002	186
8006/85	0,25	-	0,0009	201	0,00015	102
7951/85	0,25	+	0,00024	141	0,0054	135
3996/85	1,0	-	0,00031	192	0,00061	129
2662/85	1,0	+	0,0026	165	0,00005	111
2700/85	2,0	-	0,0028	222	0,00061	129
10762/84	2,0	+	0,00047	138	0,00005	111

4. DISKUSSION

Den vorliegenden Untersuchungsergebnissen zufolge erweisen sich die beim Menschen nach einmaliger intramuskulärer Injektion von 500 mg bzw. 1000 mg Cefotetan erreichbaren Serumspiegelzeitprofile als im in vitro-Simulationsversuch in etwa gleichermaßen bakterizid gegenüber Gonokokkenstämmen, die klinisch nach einmaliger Verabfolgung von 1000 mg eradiziert bzw. nicht eradiziert worden waren. Dies gilt in Sonderheit auch für Stämme gleicher minimaler Hemmkonzentration im Agardilutionstest von bakteriologisch geheilten respektive ungeheilten Patienten.

Da darüberhinaus die Auswertung der in vitro-Empfindlichkeit aller bei einer klinischen Prüfung isolierten Stämme (Korting u.a., 1986) zwar gezeigt hatte, daß eher auch in vitro weniger empfindliche Stämme in vivo nicht eradiziert werden, andererseits eine Eradikation bei Stämmen durchaus unterschiedlicher minimaler Hemmkonzentration statthaben kann oder aber auch nicht statthaben kann (Schwankungsbreite von 0,063 bis 2 µg/ml), muß gefolgert werden, daß vermutlich Unterschiede in der intrinsischen antimikrobiellen Aktivität von Cefotetan gegenüber *Neisseria gonorrhoeae* nicht im Vordergrund stehen, wenn es darum geht, zu erklären, warum Cefotetan-Einmaltherapieprotokolle anscheinend niedrigere Heilungsraten bei unkomplizierter Gonorrhoe zeitigen, als dies zumindest bei manchen Vertretern der Cephalosporinreihe der Fall ist.

Nunmehr muß angesichts der beobachteten Versagensfälle nach anderen möglichen Ursachen gefragt werden, zu denken ist insbesondere an eine bei manchen Menschen nicht ausreichende Bioverfügbarkeit.

Die bisherigen pharmakokinetischen Untersuchungen bei Probanden sprechen freilich eher nicht für große interindividuelle Unterschiede. Nach der hier zu Grunde gelegten Untersuchung von Guibert u.a. (1983) beträgt der Gipfel des Serumspiegels nach intramuskulärer Gabe von 500 mg Cefotetan $33,7 \pm 1,7$ mg/l, nach einer Untersuchung von Yates (1983) schwankt der Plasmaspiegel zwischen 15 und 31 mg/l. Entsprechend betrug der Serumspiegelgipfel nach Gabe von 1000 mg Cefotetan $70,7 \pm 3,8$ mg/l bei Guibert u.a. (1983), der Plasmahöchstwert zwischen 41 und 70 mg/l bei Yates (1983).

Immerhin könnten die Unterschiede in der Bioverfügbarkeit bei Patienten größer sein als bei Probanden; von daher scheint es empfehlenswert, in Fällen der Einmalbehandlung einer unkomplizierten Gonorrhoe mit Cefotetan zukünftig Proben zu gewinnen, um begleitende pharmakokinetische Untersuchungen zu ermöglichen.

Die Heilungsraten von Cefotetan bei unkomplizierter Gonorrhoeae betragen verschiedenen Untersuchungen zu Folge zwischen 92,3 % (Korting u.a., 1986) und 91,0 % (Hunter u.a., 1983). Heilungsraten von 95 % oder mehr nach Einmalbehandlung mit 500 respektive 1000 mg wurden in keiner Studie nachgewiesen.

Nicht auszuschließen bei Erregerpersistenz ist natürlich auch eine Reinfektion zum Zeitpunkt der Therapie.

Insbesondere einer der für diese Untersuchung herangezogenen Stämme läßt diese Vermutung zu. Nach einem Therapieversagen einer Einmalbehandlung mit Cefotetan war der Patient abermals mit Cefotetan behandelt worden. Die wiederholte Verabreichung hatte zum Erfolg geführt. In beiden Fällen hatten die vom Patienten gewonnenen Gonokokkenisolate die gleiche minimale Hemmkonzentration in bezug auf Cefotetan und Penicillin.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Jeweils zwei Neisseria-gonorrhoeae-Isolate mit gemessen an der minimalen Hemmkonzentration gleicher Empfindlichkeit gegenüber Cefotetan wurden über eine Zeit von 8 Stunden in vitro gegenüber dem Serumkonzentrationszeitprofil beim Menschen nach einmaliger intramuskulärer Gabe von 500 respektive 1.000 mg exponiert.

Die minimalen Hemmkonzentrationen der untersuchten Stämme lagen bei 0,063, 0,25 1,0 bzw. 2,0 g/ml. Jeweils einer der Stämme jedes Paares stammte von einem Patienten mit unkomplizierter Gonorrhoe, die einer Einmalbehandlung im Sinne der einmaligen intramuskulären Injektion von 1 g Cefotetan zugänglich gewesen war, der jeweils andere von einem entsprechenden Patienten, bei dem die Heilung aber ausgeblieben war.

Wesentliche Unterschiede in der Reduktion der Keimdichte bei Versager- und Nicht-Versager-Stämmen fanden sich nicht, so beanspruchte die Keimreduktion um 99 % (t_{99} %) bei den Versagerstämmen zwischen 1,9 und 3,1 Stunden, bei den Nicht-Versagerstämmen zwischen 1,7 und 3,0 Stunden.

Den vorliegenden Ergebnissen zufolge erlaubt nicht nur die Untersuchung der minimalen Hemmkonzentration von Cefotetan bei Gonokokken keine klare Vorhersage des klinischen Erfolges bei unkomplizierter Gonorrhoe, sondern auch nicht die in vitro-Exposition gegenüber dem Probanden gefundenen Serumkonzentrationszeitprofil.

Das bei der Einmalbehandlung der unkomplizierten Gonorrhoe mit Cefotetan wiederholt beobachtete Therapieversagen scheint auf andere Umstände als die in vitro-Empfindlichkeit der Erreger zurückzugehen, zu denken ist beispielsweise an interindividuelle Unterschiede in der Bioverfügbarkeit.

6. VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN

- Abb. 1: Die Strukturformeln von Cefotetan und Cefoxitin
- Abb. 2: Versuchsanordnung zur Simulation von Serumspiegeln
- Abb. 3: Entwicklung der Keimdicke von *Neisseria gonorrhoeae* in Abwesenheit von Cefotetan unter Verwendung der Parameter für die Simulation einer Dosis von 1000 mg
- Abb. 4: Bakterizidie-Effekt des 500 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von 0,063 $\mu\text{g/ml}$
- Abb. 5: Bakterizidie-Effekt des 1000 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von 0,063 $\mu\text{g/ml}$
- Abb. 6: Bakterizidie-Effekt des 500 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von 0,25 $\mu\text{g/ml}$
- Abb. 7: Bakterizidie-Effekt des 1000 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von 0,25 $\mu\text{g/ml}$

- Abb. 8: Bakterizidie-Effekt des 500 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von $1,0 \mu\text{g/ml}$
- Abb. 9: Bakterizidie-Effekt des 1000 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von $1,0 \mu\text{g/ml}$
- Abb. 10: Bakterizidie-Effekt des 500 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von $2,0 \mu\text{g/ml}$
- Abb. 11: Bakterizidie-Effekt des 1000 mg-Serumspiegelzeitprofils von Cefotetan bei einem Gonokokkenversagerstamm (—) bzw. -Nichtversagerstamm (---) bei einer MHK von $2,0 \mu\text{g/ml}$

7. VERZEICHNIS DER TABELLEN

- Tab. 1: $MHK_{50\%}$ -Werte von Cefotetan und Cefoxitin
für *Bacteroides fragilis*
- Tab. 2: Pharmakokinetische Parameter und für den
Versuchsablauf daraus abgeleitete Kenn-
größen
- Tab. 3: Bakterizidieparameter für die in vitro gegen-
über dem Konzentrationszeitprofil von 500
und 1000 mg Cefotetan im Serum exponierten
Neisseria gonorrhoeae-Stämme

8. LITERATURVERZEICHNIS

Berg, S.W.; Kilpatrick, M.E.; Harrison, W.O.; McCutchan, J.A. 1979. Cefoxitin as a single-dose treatment for urethritis caused by penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. N. Engl. J. Med. 301: 509 - 511

Clarke, a.M.; Zemkov, S.J.V. 1983. Antibacterial activity of the cephamycin cefotetan: an in-vitro comparison with other β -lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 11, suppl. A: 67 - 72

Detle, G.A.; Knothe, H.; Henckel, S. 1983. Cefotetan: antimicrobial activity in-vitro compared with that of cefotaxime. J. Antimicrob. Chemother. 11, suppl. A: 11 - 17

Eichmann, A. 1983. Penicillinresistenz der Gonorrhoe in Europa. Hautarzt 34: 537 - 538

Grasso, S.; Meinardi, G.; de Carneri, I., Tamassia, V. 1978. New In vitro model to study the effect of antibiotic concentration and rate of elimination on antibacterial activity. Antimicrob. Agents Chemother. 13: 570 - 576

Guibert, J.; Kitzis, M.D.; Yvelin, C.; Acar, J.F. 1983. Pharmacokinetics of single intravenous and intramuscular doses of cefotetan in normal human volunteers. J. Antimicrob. Chemother. 11, suppl. A: 201 - 206

Komiya, M., Kikuchi, Y.; Tachibana, A.; Yano, K. 1982. Microbiological assay methods of cefotetan (YMO9330). Concentrations in body fluids. Chemotherapy 30, suppl. 1: 98 - 105

Korting, H.C.; Abeck, D.; Neubert, U. 1986. Evaluation of cefotetan in uncomplicated gonorrhoea. Dermatologica 173: 237 - 244

Korting, H.C.; Abeck, D.; Neubert, U. 1986. In-vitro-Empfindlichkeit von *Neisseria gonorrhoeae* gegenüber Cefotetan und Ciprofoxacin - Abhängigkeit von Beta-lactamasebildung und Auxotyp. Zeitschr. antimikrob. antineoplast. Chemother.: 4: 71 - 75

Korting, H.C.; Maier, W.; Schäfer-Korting, M. 1978. In-vitro-Bakterizidieffekte von Oxofloxacin bei *Streptococcus-pyogenes*-Hautisolaten. Zeitschr. antimikrob. antineoplast. Chemother.: in press

Korting, H.C.; Neubert, U. 1984. Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to ceftizoxime in vitro and in vivo. Chemotherapy 30: 322 - 327

Korting, H.C.; Niederauer, H.; Ollert, M. 1986. Bactericidal activity of ceftiam and ceftizoxime against *Neisseria gonorrhoeae* in an in vitro model simulating plasma and cantharidal blister fluid levels after the single intramuscular application of one gram. Chemotherapy 32: 260 - 269

Moosdeen, F.; Maskell, J.; Philpott-Howar, J.; Williams, J.D. 1983. Cefotetan activity against Gram-negative aerobes and anaerobes. J. Antimicrob. Chemother. 11, suppl. A: 59 - 65

Morse, S.A.; Vaugkan, P.; Johnson, D.; Iglewski, B. 1976. Inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* by a Bacteriocin from *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. 10: 354 - 362

Palumbo, G.; Cianci, A.; Pafumi, C.; Russo, I.; Tempera, G.; Toscano, M.A. 1984. Cefotetan in obstetric and gynaecological infections. In: Lode, H.; Periti, P.; Strachnan, C.J.L. (eds): Cefotetan, a long acting antibiotic. Proceedings of a symposium held in association with the 4th Mediterranean Congress of Chemotherapy, Rhodes. Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York: 149 - 151

Phillips, I.; King, A.; Shannon, K., Warren, C. 1983. Cefotetan in vitro antibacterial activity and susceptibility to β -lactamases. J. Antimicrob. Chemother. 11, suppl. A: 1 - 9

Phillips, I.; 1976. Beta-lactamase-producing penicillin resistant gonococcus. Lancet 2: 556 - 657

Privitera, G.; Ortisi, G.; Vigo, B.; Rossi, R.; Setti, C.; Moroni, M. 1984 In vitro activity of Cefotetan, a new cephamycin, against *Bacteroides fragilis*. In: Lod, H., Periti, P.; Strachan, C.J.L. (eds): Cefotetan, a long acting antibiotic. Proceedings of a symposium held in association with the 4th Mediterranean Congress of Chemotherapie, Rhodes. Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York 28 - 32

Shah, P. M. 1981. Bactericidal activity of ampicillin an amoxicillin. J. Antimicrob. Chemother. 8, Suppl. C: 93 - 99

Shah, P. M.; Hübner, K. G.; Stille, W. 1978. In-vitro Untersuchungen zu intermittierenden Therapie mit Penicillin und Ampicillin. Medizinische Welt 29: 888 - 892

Stille, W., Simon, C. 1985. Antibiotikatherapie in Klinik und Praxis. 6. Aufl., F. K. Schattauer Verlag. Stuttgart-New York: 83 - 85

Vömel, W. 1965. Experimentelle Grundlagen der Entwicklung antibakterieller Chemotherapeutika. Therapiewoche 15: 1081 - 1089

Wittke, R.R.; Adam, D.; Keemss, J.; 1984. Cefotetan in the treatment and prophylaxis of surgical infections: pharmacokinetics in wound secretion, bile and tissues. In: Lode, H., Periti, P.; Strachan, C.J.L. (eds):

Cefotetan, a long acting antibiotic. Proceedings of a symposium held in association with the 4th Mediterranean Congress of Chemotherapie, Rhodes. Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York: 255 - 262

Yates, R. A.; Cockshott, I.D., Houghton, H.L., Wardleworth, A.; Adam, H.K., Donelly, R.J. 1983. Pharmacokinetics and tolerance of single intramuscular doses of cefotetan in normal Caucasian volunteers. J. Antimicrob. Chemother. 11, suppl. A: 207 - 212

Am Schluß dieser Arbeit sei es mir erlaubt, Herrn Prof. Dr. med. Dr.h.c. O. Braun-Falco für die Überlassung des Themas und Herrn PD Dr. med. H. C. Korting für die freundliche Beratung und Betreuung bei der Durchführung der Arbeit meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Den Assistentinnen des Bakteriologischen Labors, Frau Kaspar, Frau Kugler und Frau Weishaar sei für die freundliche Unterstützung beim praktischen Arbeiten herzlich gedankt.

LEBENS LAUF

- 25.10.1959: Geburt als erstes Kind der Ehegatten
Dr. Siegfried Käufl und Elisabeth Käufl,
geborene Kaiser, in München
- Sept. 1966: Einschulung in die Volksschule Pürkwang
- Sept. 1970: Übertritt in das Johannes-Nepomuk-
Gymnasium in Rohr
- 27.06.1979: Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife
am Johannes-Nepomuk-Gymnasium in Rohr
- Mai 1980: Beginn des Studiums der Zahnheilkunde an
der Ludwig-Maximilians-Universität in
München
- 15.01.1986: Bestehen des Staatsexamens der Zahnheil-
kunde an der Ludwig-Maximilians-Universi-
tät in München
- 20.01.1986: Erteilung der Approbation als Zahnärztin
durch das Bayerische Staatsministerium
des Innern
- 20.01.1986: Beginn der Tätigkeit als Assistenz Zahn-
ärztin

